

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



CARACTERIZACIÓN DE 10 LINEAS ELITE DE TRIGO FORRAJERO (*Triticum aestivum* L) POR CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD.

Por:

José Luis Domínguez González

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Marzo 2008

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA**

CARACTERIZACIÓN DE 10 LINEAS ELITE DE TRIGO FORRAJERO (*Triticum aestivum* L) POR CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD.

POR:

José Luis Domínguez González

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador, como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobado por el Comité de Tesis:

Asesor principal

SINODAL

MC. María Alejandra Torres Tapia

Dr. Víctor Manuel Zamora Villa

SINODAL

SINODAL

Biol. María Teresa Ruiz de León

Ing. María de Lourdes Hernández Hernández

Coordinador de la División de Agronomía

Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

AGRADECIMIENTOS

A DIÓS

Por hacer realidad mi sueño que tanto anhelé, y estar conmigo en los momentos mas difíciles de mi vida, sobre todo porque me brindaste esa luz que permitió dirigir mi camino para no tropezar en la obscuridad, gracias Dios por tu gran paciencia, por tu compañía y sobre todo por la salud que me brindaste en el transcurso de mi carrera.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por brindarme el apoyo para mi formación profesional.

A la Mc. María Alejandra Torres Tapia, por la atención y extraordinaria asesoría. Sobre todo por los conocimientos que me brindó en el cual sacaron adelante el trabajo de esta investigación, gracias por la paciencia y su amistad brindada que Dios la bendiga.

Al Dr. Víctor M Zamora Villa, por la atención brindada en el cual sacaron adelante la elaboración de este trabajo de investigación, sobre todo por las orientaciones en los análisis e interpretaciones.

A la Biol. María Teresa Ruiz de León, por brindarme sus conocimientos en el transcurso de mi carrera, por el cual formo parte de esta investigación.

A la Ing. María de Lourdes Hernández Hernández, por su valiosa participación en la revisión de este trabajo.

A la Lic. Sandra López Betancourt, por su gran apoyo incondicional que me brindó en la elaboración de esta investigación. Gracias.

A todos mis maestros por transmitirme sus amplios conocimientos en el cual formaron parte de este trabajo de investigación. Gracias.

A todos mis compañeros de generación por la amistad que me brindaron y de todo corazón a mis admirables compañeros: Aimer, Layner, Joel, Nelson, Julio, Roberto, Narciso, Enrique, Elvira, Yanet, Isauro, Gisel Rubio, Anselmo, Erisel Todos ellos por el apoyo brindado para mi formación profesional y su inmensa amistad. Gracias

DEDICATORIA

Gracias Dios, por brindarme una familia tan especial.

Con respeto y cariño a mis queridos padres:

Delmar Domínguez Pinto

María Elena González Velásquez

Gracias por la confianza y paciencia que me tuvieron, por sus esfuerzos, sacrificios y sus sabios consejos que me sirvieron de mucho para mi formación como profesionista y como persona, les estoy muy agradecidos ya que es la mejor herencia que he recibido de ustedes deseo de todo corazón que diosito los llene de bendiciones.

A mis queridos hermanos:

José Delmar

Rosa Leticia

Blanca Araceli

Klena Susana

Elizabeth

Quienes agradezco de todo corazón el apoyo que brindaron para mi formación profesional, sobre todo por la confianza, sus sabios consejos, por las bendiciones que recibí y por ser lo mas importante en mi vida con quienes he compartido momentos de alegría y tristeza.

A MIS CUÑADOS.

Fernando

Venerando

Joel

Por formar parte importante en mi familia con quienes he pasado momentos de felicidad y de tristeza, por sus sabios consejos y bendiciones.

A MIS SOBRINOS.

Fernandito

Ana Leticia

Danielito

Jesús Alberto

Vivianita

Carlos Alberto

Juanito

Ya que son los ángeles que nos han llenado de alegría y amor a toda la familia y por las cuales nos inspiran a seguir adelante.

INDICE DE CONTENIDO

	Pagina.
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS.....	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Concepto de semilla.....	4
Calidad de las semillas.....	5
Germinación.....	9
Vigor de la semilla.....	13
Factores que influyen en el vigor de la semilla.....	15
Deterioro de la semilla.....	16
Composición química de la semilla.....	17
MATERIALES Y METODOS	23
UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	23
MATERIAL GENÉTICO.....	23
PARÁMETROS EVALUADOS.....	24
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
Calidad física.....	33
Calidad fisiológica.....	35
Cuantificación de proteínas.....	45
Correlaciones entre las variables fisiológicas y bioquímicas.....	47
CONCLUSIÓN	49
LITERATURA CITADA	51
CITAS DE INTERNET	55
APÉNDICE	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	pagina
3.1 Relación de 10 líneas elite de trigo forrajero imberbes (<i>Triticum aestivum</i> L.) utilizados en el experimento.....	23
4.1 Cuadrados medios y significancia para cada una de las variables en la Calidad fisiológica y resultados de la comparación de medias (DMS) en 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	36
4.2 Cuadrados medios y significancia para cada una de las variables en vigor (Envejecimiento acelerado), y resultados de la comparación de media (DMS). En 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	43
4.3 Cuadrados medios y significancia para proteína (glutelina) en 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	pagina
4.1 Comportamiento de 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el Contenido de Humedad.....	33
4.2 Comportamiento de 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>) en relación al Peso Volumétrico.....	34
4.3 Comportamiento de 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>) en el peso de Mil Semillas.....	34
4.4 Comportamiento para las variables germinación (PN), plantas anormales (PA) y semilla sin germinar (SSG) en 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>).....	36
4.5 Repuesta del porcentaje de germinación o plántulas normales en un primer conteo a 4 días en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>), producido en UAAAN, 2006-2007.....	38
4.6 Comportamiento para la variable longitud media de plúmula (LMP) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>).....	39
4.7 Respuesta del Comportamiento para la variable peso seco (PS) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>).....	40
4.8 Comportamiento para las variables germinación (PN), plantas anormales (PA) y semilla sin germinar (SSG) evaluando vigor mediante Envejecimiento Acelerado (E A) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>).....	44
4.9 Comportamiento para peso seco evaluando vigor mediante Envejecimiento acelerado (EA) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (<i>Triticum aestivum L.</i>).....	44
4.10 Comportamiento del contenido de proteína Glutelina en trigo forrajero utilizado en EMBGLU embrión ENDGLU=endospermo- COMGLU =semilla completa.....	47

INTRODUCCIÓN

El trigo es el primer grano en producción mundial (Slafer y Satorro, 1999), el cual se utiliza principalmente en la alimentación humana. Por ello, la información publicada disponible está orientada, en su gran mayoría, hacia aspectos de calidad industrial para la elaboración de alimentos humanos (Gupta *et al.*, 1992; Jia *et al.*, 1996); el contenido de proteína cruda en el endospermo es un indicador muy importante de la calidad industrial de los trigos (Peltonen y Virtanen, 1994). No obstante, en ocasiones cuando la producción del grano supera a la demanda del mismo por los industriales, se incrementa la disponibilidad de este para su uso en la alimentación animal. En estas circunstancias, el precio del trigo puede ser comparable al de los granos más comúnmente usados (sorgo ó maíz) en las dietas para cerdos. Sin embargo, la información disponible relacionada con sus características nutricionales para cerdos y los factores que la afectan es muy limitada.

Es sabido, que la suma de los componentes genético, físico, fisiológico y sanitario dentro de un programa de producción, dan como resultado una semilla de alta calidad; aunado a esto, es necesario resaltar que las características sobresalientes del material genético superior se determina por el genotipo de la variedad o híbrido, el cual forma parte de la calidad genética (Thomsom, (1979). Para ello, estas características son obtenidas durante la etapa de mejoramiento genético (Garay, 1989); las cuales no se deben perder en su propagación o multiplicación, sino que es necesario mantener e identificar los cultivares de potencial y de valor comercial (De la Torre, 1992), para su posible comercialización.

Por ello, en la actualidad la protección de variedades generadas es eminente. En México, el organismo encargado de la protección de variedades es el SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas) aunado con el comité de consultaría y registro, quienes aceptan o rechazan las nuevas variedades para su futura comercialización.

El registro de las nuevas variedades requiere de la descripción fenotípica y de calidad, además de una descripción molecular y / o bioquímica, que diferencie genéticamente a individuos o variedades.

En el caso de maíz se encontró una relación directa entre las proteínas estructurales llamadas zeínas con el vigor de la semilla y las proteínas funcionales con la germinación de la misma (Torres 2004), por lo que se pueden establecer ciertos parámetros a evaluar relacionados con la calidad fisiológica de la semilla con su bioquímica y poder determinar su aspecto genético con estos mismo parámetros.

Con ello, el programa de cereales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, tiene la necesidad de obtener descriptores varietales fisiológicos y bioquímicos en 10 líneas generadas de trigo forrajero imberbe, para un posible registro ante el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas para su futura comercialización de estas nuevas líneas, así como el considerar una nueva metodología para evaluar la calidad fisiológica de los materiales en menos tiempo; por lo cual se presentan el siguiente objetivo general y objetivos específicos.

OBJETIVO GENERAL

- Caracterizar 10 líneas élite de trigos forrajeros para obtener descriptores varietales bioquímicos de cada uno para su correspondiente registro ante el Registro Nacional de Variedades de Plantas (RNVP) y el Comité Consultivo de Variedades de Plantas (CCVP) y obtener una prueba alternativa de calidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar 10 líneas élite de trigo forrajero en función de la cantidad y tipo proteína presentes en endospermo, embrión y semilla completa.
- Establecer la relación entre el tipo de proteínas presentes en endospermo, embrión y semilla completa con variable de calidad fisiológica en germinación y vigor en las líneas estudiadas.

HIPÓTESIS

- Se encontrarán diferencias en al menos una de las líneas estudiadas, en cuanto a su tipo y contenido de proteínas presentes en endospermo, embrión y semilla completa,
- En las líneas estudiadas, existe una relación entre el tipo y cantidad de proteína, en alguna de las estructuras o en toda la semilla con la capacidad de germinación y vigor de la misma.

REVISIÓN DE LITERATURA

Concepto de semilla

Botánicamente, una semilla es un óvulo maduro contenido dentro del ovario maduro o fruto; esta compuesta por tres partes básicas que son: el embrión, los tejidos de reserva y la testa o cubierta de la semilla. Bidwel (2002) menciona que la semilla es una estructura en reposo. Por lo regular esta sumamente deshidratada, compuesta principalmente por tejidos de reserva y rodeada por una cubierta esencialmente impermeable. Los procesos metabólicos están suspendidos o tienen lugar muy lentamente; la semilla esta en una condición de vida interrumpida, debido principalmente a su carencia de agua y oxígeno.

Moreno (1996), menciona que en términos agronómicos y comerciales, se conoce como semilla a toda clase de grano, fruto y estructuras más complejas (unidad semillas) que se emplea en las siembras agrícolas; y desde el punto de vista botánico, una semilla verdadera es un embrión es estado latente acompañado o no del tejido nutricional y protegido por el epispermo.

Villareal (1993), dice que la semilla es un ovulo maduro y fertilizado, el cual lo conforman las siguientes partes: una cubierta o testa que protege las partes internas, el endospermo o tejidos de reserva del alimento, que en muchas semillas rodea los cotiledones y el embrión. En algunas semillas como en las leguminosas, la reserva de energía es almacenada en los cotiledones en cambio el embrión o planta en estado rudimentario esta la que se origina del desarrollo fecundado.

Potes (1977), menciona tres funciones fundamentales de la semilla, la primera que es portadora de las características genéticas inherentes que se transmiten de

generación en generación, esencialmente sin cambio alguno; la segunda la semilla funciona como un sistema eficaz de almacenaje de reserva para una planta viva y la tercera que cierra el ciclo de la reproducción de especies. Camacho (1994) define a la semilla en un sentido botánico estricto, como un ovulo fecundado independiente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y la capacidad fisiológica para originar un nuevo vegetal.

Calidad de las semillas

El análisis de semilla brinda información y establece un estándar para determinar el nivel de calidad. El conjunto de cualidades genéticas, fisiológicas, sanitarias y físicas que le dan a la semilla su capacidad para dar origen a plantas productivas.

Según el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 1991), la calidad de las semillas es el conjunto de cualidades genéticas, fisiológicas, sanitarias y físicas que dan su capacidad para dar origen a plantas productivas. Por su parte Garay *et al.*, (1992), afirman que la calidad de la semilla involucra cualidades básicas diferentes que están incluidas en cuatro componentes que son: físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios, por lo que concluye que el potencial productivo de la semilla estará en un máximo nivel cuando en ella estén todos y cada uno de estos componentes.

Pérez (1995), señaló que la calidad de la semilla constituye la suma de múltiples atributos de la misma, siendo estos, la pureza genética, daño mecánico, capacidad de vigor y germinación, tamaño, contenido de humedad, daño provocado por los insectos y la infección causada por diferentes agentes.

Hampton (2001), define la calidad como “grado” o “padrón de excelencia”, la calidad de las semillas pueden ser vistas como un padrón de excelencia en ciertos

atributos que van a determinar el desempeño de la semilla en la siembra o en el almacén. En la práctica, la expresión, “la calidad de semillas” es utilizada libremente para reflejar el valor de la semilla para propósitos específicos, el desempeño de la semilla debe estar a la altura de las expectativas del consumidor.

La calidad de semillas es un concepto múltiple que comprende diversos componentes:

1. Descripción: especie y pureza varietal, pureza analítica, uniformidad, peso de semilla, etc.
2. Higiene: contaminación por agentes invasoras nocivos, que afectan la sanidad de semillas, como la infestación de insectos y ácaros, así como la de enfermedades.
3. Potencial de desempeño: germinación, vigor, emergencia y uniformidad en campo.

Perretti (1994), reporta que una semilla de calidad es altamente viable, es decir, es una semilla susceptible de desarrollar una planta normal aun bajo condiciones ambientales no ideales, tal como puede ocurrir en campo. Para ello debe contar con propiedades que le aseguren germinar bajo un amplio rango de condiciones agro-climáticas.

Andrews *et al.*,(1997) mencionan que la semilla puede alcanzar una calificación de calidad determinada de acuerdo a su pureza, germinación, apariencia, uniformidad, contaminación de semillas de malezas, insectos, materia inerte, asociación con enfermedades, daño mecánico, grado de deterioro, estado de madurez, etc.

Calidad Física

Se asocia a la presencia o ausencia de cualquier contaminante (material inerte, semilla de malezas, insectos, quistes de nematodos), además de aspectos de

color, tamaño, daños, uniformidad, que por ser visibles tienen un alto valor para el consumidor.

El análisis de pureza física forma parte de la calidad física de la semilla considerando que cuando la semilla llega del campo, lo hace acompañada de otra semilla y cuerpos no deseados que desmerecen su calidad, siendo necesario determinar en qué proporción se encuentra cada componente del lote de semillas, para aceptarlo o no y disponer las operaciones posteriores.

Calidad Genética

Se obtiene en la etapa de mejoramiento genético en donde se seleccionan aquellos materiales con características apropiadas a condiciones agroecológicas del productor, la calidad genética se puede asegurar sembrando semillas auténticas y puras manteniendo esta autenticidad y pureza durante su multiplicación.

Calidad Fisiológica

Está en la facultad de la semilla de germinar, emerger y dar origen a plantas uniformes y vigorosas.

La calidad fisiológica de la semilla incluye los atributos de viabilidad, capacidad de germinación y vigor; siendo la semilla un insumo vivo, es importante que cuente con la capacidad de reproducir una planta para lograr su establecimiento en campo y obtener su rendimiento de forraje y/o grano (Bustamante, 1995). Por su parte, Moreno (1996), considera que la calidad fisiológica es un valor comercial por ser el principal atributo a evaluar, ya que consiste en la capacidad de la semilla para germinar y producir una plántula normal.

Por otro lado Thomson (1979), marcó que las características de la semilla son: que sea viable, que tenga alta capacidad de germinación y vigor; asimismo, que la calidad fisiológica depende de muchos factores y puede ser muy fácilmente dañada

en cualquiera sus etapas: maduración, cosecha, trillado, desgrane, acondicionamiento, almacenamiento, distribución, siembra y en el suelo.

Moreno (1996), define a la germinación, como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables, coincidiendo con las definiciones de la OASA (1993), International Seed Testing Association (ISTA, 1996). Esta última Asociación añade que, la germinación de semilla en un ensayo de laboratorio es la emergencia y desarrollo de la plántula aun estado donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica si son o no capaces de desarrollarse bajo condiciones favorables de suelo

Otros de los atributos que actualmente se han considerados dentro del manejo de semillas es el vigor, el cual, en 1977 la ISTA lo define como la suma total de aquellas propiedades de la misma que determinan el nivel de actividad y comportamiento de la semilla o lote de semilla durante la germinación y emergencia de la plántula. Este concepto vario un poco, ya que la OASA en 1980 lo describió como aquellas propiedades de la misma que determina el potencial para una rápida, uniforme emergencia y desarrollo de plántula, bajo una amplia variación de condiciones de campo (Moreno,1996). El mismo autor menciona que, al evaluar el vigor de las semillas es de gran utilidad para predecir el comportamiento de un lote cuando las condiciones del medio ambiente no son del todo favorables para la germinación y la emergencia de las plántulas. El manual de la ISTA (1996), menciona por último, que las semillas que muestran un buen comportamiento son consideradas de alto vigor, y aquellas que presentan un pobre comportamiento son llamadas de bajo vigor.

Calidad Sanitaria

Está dada por la utilización de genotipos libres de plagas y enfermedades y la implementación de medidas preventivas en la fase de producción.

La ISTA (1996), define como sanidad de semillas principalmente a la ausencia de organismos causantes de enfermedades, tales como hongos, bacterias, virus y pestes animales, como son nematodos o insectos, además condiciones fisiológicas como vestigios de deficiencia de elementos que pueden estar incluidos, coincidiendo con la definición de Moreno (1996).

Recientemente el concepto de sanidad se ha ampliado para considerar la presencia de toxinas producidas por los microorganismos que pueden contaminar un lote.

Germinación

Bidwel (2002), menciona que las semillas maduran en el interior del fruto. Después de la maduración y caída de los frutos, la semilla generalmente entra en letargo por un tiempo más o menos largo. Esto quiere decir, que aunque se le humedezca y se den condiciones que favorecen la germinación, esta no se produce. El letargo se debe a la formación en la semilla de inhibidores químicos, a la carencia de las sustancias estimulantes necesarias (que mas tarde suministrara el embrión) o la resistencia mecánica de la testa de la semilla a la entrada del agua y del oxígeno. El letargo se rompe luego de que la semilla se sujeta a varias condiciones ambientales que pueden incluir un prolongado periodo de frio intenso, exposición a condiciones de fresco, condiciones de humedad en presencia de oxígeno (estratificación), calor intenso (incluso fuego), paso a través de intestinos de aves o mamífero, abrasión física (escarificación) o ataque por hongos

Rojas (1959), señala que la germinación es una serie compleja de cambios bioquímicos y fisiológicos que da como resultado la iniciación del crecimiento y movilización de los alimentos de reserva dentro de la semilla para ser utilizadas por el embrión en su crecimiento. Dice además que por lo general, en los primeros estados de la germinación la cantidad de azúcar del endospermo aumenta tan

rápidamente, que el embrión no alcanza a oxidarla debido a la transformación del almidón y las grasas en glucosa por los sistemas enzimáticos. Mientras estos cambios están realizándose las proteínas insolubles presentes en el endospermo han adquirido solubilidad y los diversos productos de la hidrólisis de las proteínas, -peptonas, polipéptidos y aminoácidos, aparecen como resultado de la actividad de las proteasas, que al igual que la actividad de las otras enzimas aumentan notablemente en esta fase.

Según Harmann y Kester (1995), para que la germinación de inicio se deba a llenar tres condiciones: 1) la semilla debe ser viable; esto es; el embrión debe estar vivo y tener capacidad para germinar, 2) las condiciones internas de la semilla deben ser favorables para la germinación, esto es, deben haber desaparecido las barreras físicas o químicas para la germinación y 3) la semilla debe encontrarse en las condiciones ambientales apropiadas, los requerimientos fundamentales son la disponibilidad de agua, temperatura apropiada, una provisión de oxígeno y a veces luz.

Perry (1988), hace mención que la germinación es un criterio de calidad que se acepta a nivel general y que se determina por análisis de rutina en laboratorios de evaluación de semillas. Sin embargo, la información de la capacidad germinativa no siempre garantiza en forma confiable una adecuada emergencia en campo, por lo que hace necesario conocer el vigor de la semilla, que es un aspecto de calidad de semilla más allá de la germinación.

Por otro lado, Moreno (1996), define la germinación como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables.

Condiciones para la germinación

Bidwel (2002), menciona que los factores principales son: agua, oxígeno, temperatura y luz.

Agua

El agua es primordial pues las semillas están extremadamente-deshidratadas. Normalmente contienen solo del 5 al 20% de agua de su peso total y tiene que absorber una buena cantidad antes de que se inicie la germinación; el primer estadio de la germinación llamado imbibición es por lo tanto la rápida toma de agua.

Oxígeno

Este es necesario para la germinación de la semilla. El metabolismo durante los estadios iniciales de la germinación pueden ser anaerobios cambiando a aerobios, tan pronto como la testa se rompa y el oxígeno se difunde en su interior.

Temperatura

Una temperatura correcta es importante para la germinación; generalmente las semillas no germinan por debajo de una cierta temperatura diferente según la especie. La luz también es importante para la germinación de algunas semillas. Las semillas muy pequeñas tienen tan solo mínimas cantidades de alimento almacenado para los principios de crecimiento del embrión por lo que le es necesario volverse autótrofas cuanto antes. Si germinan en el suelo muy profundamente pueden agotar sus reservas antes de alcanzar la superficie.

Eventos durante la germinación

El proceso de germinación presenta en secuencias las etapas de imbibición, hidratación de enzimas hidrolíticas y sintéticas, división y alargamiento celular, presión de la radícula o la plúmula sobre el tegumento y su emergencia a través de este.

De acuerdo a lo establecido por Copeland (1976) y revisado por Copeland y McDonald (1985), la mayoría de las semillas siguen el mismo patrón de la germinación, en las que se realizan una secuencia específica de evento. Los eventos específicos son:

Absorción de agua

Imbibición

La imbibición es el primer evento que ocurre durante la germinación, la cual consiste en la absorción de agua por la semilla. La composición de la semilla, la permeabilidad de la cubierta y la disponibilidad del agua, son factores que determinan e influyen en la extensión de la imbibición (Copeland y McDonald, 1985). Este proceso de imbibición finaliza con el inicio del crecimiento del eje embrionario, usualmente la radícula, incluyendo eventos como la hidratación de proteínas, cambios estructurales, subcelulares, respiración, síntesis macromoleculares y crecimiento celular (Bewley y Black, 1986).

Bidwel (2002), dice que el proceso de imbibición está activamente en la absorción de agua bajo ciertas circunstancias. Se trata del movimiento del agua de un área de alto potencial a otro de bajo potencial, pero sin la ayuda de una membrana diferencialmente permeable. Así mismo, fuerzas de atracción, por lo regular químicas o electrostáticas, están implicadas en la imbibición. Los solventes se imbiben usualmente solo en materiales con los que tienen afinidad; por ejemplo,

aguas en proteínas y acetonas en caucho. Las presiones que se generan por imbibición, causada por el hinchamiento de imbibente pueden ser muy grandes. La presión de imbibición de una semilla en germinación rompe la testa y una semilla insertada a modo de cuña en una fisura de roca puede resquebrajar la roca por la presión de su imbibición de agua.

Tesar (1988), reporta que después de una imbibición inicial que principia a los diez minutos, se incrementa la respiración, incrementándose además la síntesis de varias enzimas y la actividad celular. Las enzimas formadas son requeridas en la hidratación y en la acción de una hormona u otra enzima, las cuales son activadas en minutos o varias horas. La síntesis de proteína ocurre treinta minutos después de la imbibición. La liberación de reguladores de crecimiento es estimulada posteriormente por la hidratación, los cuales inician la actividad enzimática, síntesis de nuevos RNA y nuevas síntesis de DNA asociada con la división celular y el crecimiento.

Vigor de la semilla

Moreno (1996), menciona que el vigor de la semilla es la suma total de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y comportamiento de la semilla o lote de semilla durante su germinación y emergencia de la plántula. Esta definición engloba los procesos que han sido directamente relacionados con las diferencias en el vigor de la semilla:

1. Procesos y reacciones bioquímicas durante la germinación, tales como reacciones enzimáticas y actividad respiratoria.
2. Velocidad y uniformidad de la emergencia de la plántula en el campo.
3. Capacidad de emergencia de las plántulas bajo condiciones desfavorables del medio ambiente.

Entre las causas de la variabilidad de vigor se citan los siguientes:

- Genético

- Medio ambiente y nutrición de la planta
- Estado de madurez en el momento de la cosecha
- Tamaño, peso y peso volumétrico
- Daño físico
- Deterioro y envejecimiento
- Patógenos

Copeland y McDonald (1985), definen vigor de semilla como aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para una rápida emergencia uniforme y crecimiento normal de la semilla bajo un amplio rango de condiciones de campo. Además se hace mención que la capacidad germinativa de un lote de semilla indica su poder para formar plántulas con buenas condiciones de campo; el vigor se refiere a este mismo poder en malas condiciones.

A su vez, Moreno (1996), menciona que en 1977 el comité de prueba de vigor (ISTA), definió vigor de la siguiente manera: el vigor es la suma total de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y comportamiento de la semilla o lote de semilla durante su germinación y emergencia de la planta.

Las que se comportan bien se llaman semilla de alto vigor y las plantas que se comportan pobremente son denominadas semillas de bajo vigor.

Prueba de Envejecimiento Acelerado (PEA)

En esta prueba, las semillas son sometidas a condiciones de alta temperatura y humedad relativa cercana al 100%, por un período de tiempo, antes de realizar con ellas una Prueba de Germinación Estándar (PGE) (Copeland y McDonald 2001). Esto acelera el envejecimiento de las semillas y, por lo tanto, se espera que acentúe la diferencia que existe entre los lotes.

Cuando las condiciones que rodean a la semilla son de alta temperatura (superior a 35°C), normalmente se puede producir deshidratación y rupturas severas en las células cuando las semillas vuelven a ser hidratadas (Salisbury y Ross, 1992). Esto se debe a que las altas temperaturas disminuyen la fuerza de los puentes de

hidrógeno y de las interacciones electroestáticas que existen entre las proteínas y la membrana celular; además, aumentan la fluidez de los lípidos que la constituyen, produciendo un cambio en la composición y estructura de ella, causando fugas de iones e inhibición de procesos fisiológicos como la fotosíntesis y la respiración (Taiz y Zeiger, 2002). Finalmente, el envejecimiento puede producir daño en la cromatina, lo que se traduce en un aumento en la aparición de malformaciones en las plántulas (Besnier, 1989).

Primer conteo de la Prueba de Germinación Estándar (PGE)

El porcentaje de plántulas normales obtenido en el primer conteo de la prueba de germinación PGE, informa sobre las semillas que más rápidamente han reanudado la actividad metabólica y de crecimiento, propias de la germinación (Peretti, 1994).

Este porcentaje representa la rapidez de germinación de la semilla y puede ser usado como índice de vigor (Copeland y McDonald, 2001). Esta prueba presenta las ventajas de ser rápida, económica, simple y de fácil interpretación. Sin embargo, existen pocos estudios que la avalen y la utilicen como prueba de vigor sobre cultivos.

Factores que influyen en el vigor de la semilla

Copeland y McDonald (1985), mencionan que el crecimiento de una semilla comprende una serie de importantes escenarios genéticos desde una fertilización hasta la acumulación de nutrientes.

Cada uno de estos escenarios representa un cambio en la morfología y fisiología genética, donde estas pueden alterar el rendimiento potencial de la semilla. La cúspide en la que la semilla alcanza su máximo peso seco es llamada madurez fisiológica. En esta cima, esta el mayor potencial para tener una máxima germinación y vigor.

Deterioro de la semilla

Anderson y Baker (1982), indican que los procesos de deterioro pueden ocurrir en el campo después de que la semilla ha alcanzado su madurez fisiológica. Particularmente si la cosecha se realizó en temporada lluviosa y en el almacén cuando las condiciones de humedad y temperatura son elevadas, es cuando ocurre este hecho.

Flores (2004), define el deterioro de semilla como la incapacidad morfológica y/o fisiológica para germinación y desarrollo normal de la plántula. El deterioro engloba todos los cambios progresivos negativos de la semilla hasta que esta muere.

Copeland y McDonald (1985), mencionan que conforme pasa el tiempo, la semilla se va degradando, pero estos síntomas de deterioro en algunos casos no son viables de momento, sino hasta que se evalúa la germinación y crecimiento de plántulas observándose un bajo funcionamiento durante el desarrollo de éstas. La falta o retraso de la emergencia de plántulas es uno de los primeros síntomas notables en el campo, seguido de una pérdida de resistencia a estrés del medio ambiente, lo cual en muchos de los casos conlleva a la muerte total. Las semillas están únicamente equipadas para sobrevivir como organismos viables regenerativos únicamente hasta que el tiempo y el lugar sean los adecuados para el comienzo de una nueva generación: sin embargo como cualquier otra forma de vida, ellos no pueden conservar su viabilidad indefinidamente y eventualmente se deterioran y mueren. Afortunadamente ni la naturaleza, ni las prácticas agrícolas ordinarias requieren que la semilla sobreviva por un tiempo mas largo, hasta llegar al siguiente periodo de cultivo, aunque las semillas de algunas especies puedan sobrevivir por mas tiempo en condiciones propias.

Hafferkamp *et al.*, (1953), en términos generales, reportan que los cereales tiene mayor capacidad para mantener su viabilidad que las oleaginosas: sin embargo hay que señalar que estas diferencias en la capacidad de mantener su longevidad no

solamente se manifiesta entre especies, sino también en cultivares. Mencionan también que en los cereales, la cebada y la avena generalmente tienen el mayor potencial de longevidad, mientras que el centeno es quien presenta menor capacidad para mantener su germinabilidad.

Composición Química de la semilla

El grano maduro del trigo está formado por: hidratos de carbono, (fibra cruda, almidón, maltosa, sucrosa, glucosa, melibiosa, pentosanos, galactosa, rafinosa), compuestos nitrogenados principalmente proteínas: (Albúmina, globulina, prolamina, residuo y gluteínas), lípidos (ac. grasos: mirístico, palmítico, esteárico, palmitooleico, oléico, linoléico, sustancias minerales (K, P, S, Cl) y agua junto con pequeñas cantidades de vitaminas (inositol, colina y del complejo B), enzimas (B-amilasa, celulasa, glucosidasas) y otras sustancias como pigmentos.

Estos nutrientes se encuentran distribuidos en las diversas áreas del grano de trigo, y algunos se concentran en regiones determinadas. El almidón está presente únicamente en el endospermo, la fibra cruda está reducida, casi exclusivamente al salvado y la proteína se encuentra por todo el grano.

Los porcentajes de los constituyentes del trigo en las principales partes morfológicas son: pericarpio 20%, endospermo 72%, embrión 8%.

Hidratos de carbono

El almidón es el hidrato de carbono más importante de todos los cereales, constituyendo aproximadamente el 64 % de la materia seca del grano completo de trigo y un 70 % de su endospermo. Forma 70% del grano de trigo en forma natural. Los hidratos de carbono presentes en los cereales incluye al almidón (que predomina), celulosa, hemicelulosas, pentosanos, dextrinas y azúcares.

El almidón está formado por dos componentes principales: Amilosa (25 –27%), un polímero esencialmente lineal de alfa-(1 - 4) glucosa., y Amilopectina, una estructura ramificada al azar por cadenas alfa-(1-4) glucosa unidas por ramificaciones alfa-(1 - 6).

El almidón es insoluble en agua fría. Cuando se calienta con agua, la absorbe, se hincha y revienta; este fenómeno se llama gelificación.

Durante la molturación se puede lesionar mecánicamente a los granos de almidón, el almidón alterado juega un papel importante en el proceso de cocción.

La fibra es un carbohidrato del tipo polisacárido que no se digiere por carencia de enzimas en el cuerpo humano y se divide para su análisis en dos partes:

La fibra cruda que se evalúa como la porción de los hidratos de carbono (más lignina) insoluble en ácidos diluidos y en álcalis bajo determinadas condiciones.

La fibra no digerible es la parte del producto que queda sin digerir en el tubo digestivo, comprende: celulosa, polisacáridos no celulosos (gomas, mucílagos, sustancias pécticas, hemicelulosas) y también lignina, un polímero aromático no hidrocarbonatado. La cifra de fibra no digerible es siempre mayor que la de fibra cruda, ya que una parte de los componentes de la fibra no digerible se degrada durante la valoración de la fibra cruda; sin embargo, la relación es constante.

Los hidratos de carbono con la que se presentan en el grano de trigo son: Maltosa 0.18%, Glucosa 0.095, Fructosa 0.09%, Melibiosa 0.18%, Galactosa 0.02%, Rafinosa 0.07%.

Lípidos

El trigo esta constituido de un 2 a un 23% de lípidos, el lípido predominante es el linoléico, el cual es esencial, seguido del oléico y del palmítico.

La porción lipídica se encuentran de manera más abundante en el germen de trigo. Aproximadamente la mitad de los lípidos totales se encuentran en el endospermo, la quinta parte en el germen y el resto en el salvado, pero la aleurona es más rica que el pericarpio y testa. Más de la mitad de las sustancias minerales totales están presentes en el pericarpio, testa y aleurona.

Proteínas

En su estructura primaria, las moléculas de proteína están formadas por cadenas de aminoácidos unidos entre si por enlaces peptídicos entre el grupo carboxilo (COOH) de un aminoácido y el grupo amino. En las proteínas de los cereales se encuentran unos 18 aminoácidos diferentes. Las proporciones en que se encuentran y su orden en las cadenas, determinan las propiedades de cada proteína. Los alimentos preparados con trigo son fuentes de proteínas incompletas. Esto significa que pudiera contener los 8 aminoácidos esenciales pero no todos ellos en niveles adecuados, así que la combinación del trigo con otros alimentos proporcionaría de ser correcta, una proteína completa. Sin embargo si se compara con otros cereales como el arroz y el maíz llegaríamos a la conclusión de que tiene más proteínas.

La porción proteica del grano de trigo esta localizada en el endospermo, embrión y escutelo en mayor abundancia.

Toda semilla contiene carbohidratos, lípidos, proteínas y minerales para nutrir el embrión. Su naturaleza y las proporciones de cada una de ellas difieren de acuerdo a las características de la semilla. Su composición química conjuntamente con el contenido esta muy relacionada con la calidad de la semilla, al influir directamente las actividades metabólicas de las mismas.

La mayor parte de las reservas están representadas por lípidos y carbohidratos. El almacenamiento de proteínas es también una importante fuente de

reservas en las semillas. La hidrólisis de las reservas de proteínas durante la germinación suministra los aminoácidos para la síntesis de nuevas proteínas en las posturas germinadas. Los aumentos en el porcentaje de proteínas de los granos, por lo general, se asocian con aumentos en la calidad de los mismos. Las variaciones climáticas y las condiciones de cultivo determinan modificaciones en el porcentaje de proteínas del grano (Bradbeer, 1988).

Las variaciones climáticas y las condiciones de cultivo determinan modificaciones en el porcentaje de proteínas del grano.

Las prolaminas y glutelinas, son las proteínas de reserva de los cereales. La planta almacena proteínas de esa forma para su utilización en la germinación. Estas proteínas están en la matriz proteica del endospermo y no se encuentran en el pericarpio o en el germen. Las proteínas de reserva del trigo son únicas, porque son también proteínas funcionales.

El complejo «gluten», está compuesto por dos grupos principales de proteínas: gliadinas (una prolamina) y glutenina (una glutelina). Las gliadinas son un grupo amplio de proteínas con propiedades similares. Su peso molecular medio es de unos 40.000 Dalton son de cadena simple y son extremadamente pegajosas cuando están hidratadas.

Categorías de proteínas en las membranas celulares

1.- Las proteínas integrales. Se incluyen en este grupo los receptores químicos de membrana (a neurotransmisores, a factores de crecimiento). Ellas están insertadas o embebidas en la bicapa lipídica o están unidas covalentemente a otras moléculas que sí atraviesan la membrana. Una proteína que atraviesa la membrana y que ofrece un grupo N-terminal, hacia el espacio extraneuronal, es designada como del tipo I. Las hay también del tipo II que son aquellas en que el grupo N-terminal se ubica en el citosol.

2.- Las proteínas periféricas. Se ubican en el lado citosólico de la membrana a la cual se unen por asociaciones que hacen con los lípidos de la membrana o con las colas citosólicas de proteínas integrales o con otras proteínas periféricas (proteína básica de la mielina o complejos de proteínas).

Las proteínas de la membrana plasmática y las de secreción se forman en los polirribosomas que se unen al retículo endoplasmático rugoso. Ellos constituyen un material de naturaleza basófila (se tiñen con colorantes básicos como el azul de toluidina, el violeta de cresilo y el azul de metileno) que al microscopio óptico se han identificado como la sustancia de Nissl. Una vez que las proteínas formadas en este sistema pasan al interior del retículo, ellas son modificadas por procesos que se inician en el retículo y que continúan en el sistema de Golgi y aún, posteriormente, en los organelos finales a donde son destinadas (vesículas de secreción).

Las proteínas que son componentes de las membranas abandonan el retículo en una variedad de vesículas. Además de las de secreción, son muy importantes para las neuronas, las vesículas sinápticas. A través de ambos tipos de vesículas las proteínas son enviadas al espacio extraneural por la vía constitutiva o la vía regulada.

Transporte pasivo o difusión facilitada

Este mecanismo de transporte tiene características de la difusión y características cinéticas similares a los procesos de cotransporte, pero con un único soluto transportado (Lenhinger, 1987; Harvey, 1994). Pertenece a la categoría de proceso de transporte Secundario. Por este mecanismo se transportan algunos aminoácidos y glucosa en la membrana basolateral.

El proceso de transporte mediado no se inhibe al bloquear la fuente metabólica de energía. Es bidireccional, de acuerdo a la concentración relativa del substrato en cada uno de los compartimentos implicados. No se desarrolla en contra

de un gradiente y además presenta fenómenos de saturación y de inhibición competitiva (Darnell *et al*, 1988).

La velocidad de transporte es mucho mayor que la desarrollada en un modelo de difusión simple basado en la solubilidad de las moléculas en una bicapa fosfolípida y en la ecuación de Fick. Además presenta una velocidad máxima de transporte (Darnell *et al*, 1988).

Transporte activo

Es el movimiento de un metabolito o un ion inorgánico, a través de una membrana en contra de un gradiente de concentración y con inversión de energía (ATP). Los sistemas de transporte activo son unidireccionales en su funcionamiento y dependientes de la energía; es decir, impulsan el substrato a través de la membrana solamente en una dirección (Lenhinger, 1987)

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del Área de Estudio

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en el laboratorio de ensayos de semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas Buenavista Saltillo, Coahuila, México. Siendo sus coordenadas geográficas 25° 21' 20" LN y 101° 01' 30" LW del meridiano de Greenwich, a una altitud de 1743 msnm.

Material Genético

Se utilizó semilla de 10 líneas elite de trigo forrajero (*Triticum aestivum L*); todos ellas imberbes del ciclo otoño-invierno del 2006 y 2007, generados por el Programa de Cereales de la misma Universidad, cuya identificación ó clave aparece en el cuadro 3.1

Cuadro 3.1. Relación de 10 líneas elite de trigo forrajero imberbes (*Triticum aestivum L*) utilizados en el experimento.

CLAVE	ORIGEN
G1 AN -253-99-P-2	UAAAN
G2 AN-273-99-P-3	UAAAN
G3 AN-236 -99-P-4	UAAAN
G4 AN-239-99-P5	UAAAN
G5 AN-264-99P-11	UAAAN
G6 AN-237-99-P13	UAAAN
G7 AN-247-99-P14	UAAAN
G8 AN-263-99-P17	UAAAN
G9 AN-19-02-P25	UAAAN
G10 AN-25-02-P27	UAAAN

Parámetros Evaluados

Calidad física

Contenido de Humedad (CH)

Para determinar el contenido de humedad, se utilizaron tres repeticiones por genotipos de aproximadamente 5 g de semilla, colocándolas en cajas metálicas para pesarlas utilizando una balanza analítica con 0.0001 g de precisión.

Se registro el peso de la caja + tapa (P₁), y en seguida se peso la caja más tapa más semilla húmeda (P₂), las cajas con semilla se llevaron al horno a una temperatura de 130 ± 2°C, durante 1 hora, después éstas se colocaron en un desecador con sílica gel, para enfriar durante 15 minutos y se pesaron (P₃).

El porcentaje de humedad se calculo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Contenido de Humedad} = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$$

Donde

P₁ = Es el peso en gramos del recipiente y su tapa

P₂ = Es el peso en gramos del recipiente, su tapa y la muestra de semillas antes del secado.

P₃ = Es el peso en gramos del recipiente, su tapa y la muestra de semillas después del secado.

Peso de Mil Semillas (PMS)

Se determino esta variable de acuerdo a la metodología y conforme a las Reglas de ISTA (2004) para el análisis de pureza. Para ello se utilizó semilla pura de cada genotipo, formando 8 repeticiones de 100 semillas haciendo un conteo de cada uno de los genotipos en forma manual, luego se peso por separado cada repetición en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión; se calculo PMS multiplicado el

promedio de las ocho repeticiones por diez, expresados en gramos, así mismo se calculó la varianza (S^2), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV) empleando la siguiente formula:

$$S^2 = \frac{n(Sx^2) - (Sx)^2}{n(n-1)}$$

$$S = \sqrt{S^2}$$

$$CV = \frac{S}{X} \times 100$$

En donde:

X = peso en gramos en cada repetición

N = número de repeticiones

S = Suma de

X = media del peso de 100 semillas

Peso Volumétrico (PV)

El peso volumétrico se determinó mediante el uso de un recipiente de capacidad de 185.5 ml .El exceso de semilla se eliminó mediante el paso en “zig-zag” de una regla de madera, así la semilla quedó al ras del recipiente. Una vez realizada la operación de llenado, la semilla contenida en el recipiente se peso en una balanza analítica. El peso volumétrico se expreso en Kilogramos por hectolitro.

Calidad fisiológica

En el componente fisiológico de los materiales estudiados se determinó la capacidad de germinación y las diferentes pruebas de vigor según la ISTA (en International Rules for Seed Testing Asociación internacional de ensayos de semillas,

2004) y la AOSA Association of Official Seed Analysts (Asociación oficial de ensayos de semillas, 1993); evaluando las siguientes variables.

Capacidad de germinación (CG)

Se sembraron cuatro repeticiones de 25 semillas en una línea media del papel de germinación húmedo marca Anchor, se cubrió la semilla con otra hoja húmeda del mismo papel, quedando la semilla entre las dos toallas húmedas, de acuerdo a las reglas de la ISTA (1996). Las toallas se enrollaron e identificaron con el número correspondiente de genotipo y repetición, se guardaron los “tacos” en bolsas de polietileno, colocándolas en una cámara germinadora HOFFMAN MANUFACTURING a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ constante con 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad. Posteriormente se realizó el conteo de plántulas normales, anormales y semillas sin germinar o muertas, a los 7 días según lo establecido por la prueba, de la ISTA para la evaluación de plántulas se tomó el criterio conforme a el manual de la AOSA (1992).

VIGOR

Primer conteo (PC)

Este corresponde a las plántulas normales de tamaño aceptable predeterminado, obtenidas en el primer conteo al cuarto día del ensayo de germinación. (AOSA, 1983).

Envejecimiento acelerado (EA)

Se utilizó el método de AOSA (1983), en donde se colocaron 100 semillas por genotipo, en una malla de alambre inoxidable colocándola en un soporte del mismo material, todo ello se llevó dentro de un vaso de precipitado de 600 ml conteniendo

100 ml de agua (cámara interna), logrando una humedad relativa \pm 95%. Posteriormente se taparon con un plástico, ajustándolo con una liga de caucho. Los vasos de precipitado se colocaron dentro de una cámara de envejecimiento acelerado marca V. W. R. SCIENTIFIC por un tiempo de 48 horas a 42°C. Al finalizar el periodo de exposición se sacaron las semillas y se realizó una prueba de germinación tal como se describió anteriormente con cuatro repeticiones de 25 semillas.

Longitud media de plúmula (LMP)

Se determinó esta variable antes y después de someter las semillas a envejecimiento acelerado, con el fin de evaluar el vigor con más precisión.

Se sembraron 25 semillas en cuatro repeticiones por genotipo. Se preparó previamente el papel de germinación marca "Anchor" con cinco líneas paralelas de 2 cm de separación, iniciando a la mitad del papel hacia arriba. (Perry 1977).

En la línea central del papel marcado se colocó una cinta adhesiva, en la cual se pegaron las semillas a un centímetro de separación entre ellas, orientadas con el embrión hacia abajo para su crecimiento. Posteriormente se cubrieron con otra toalla o papel y se enrollaron. Las toallas se enrollan a un diámetro de 3 cm en forma de "taco" y estos se sumergieron en agua hasta su absorción total; luego se colocaron en bolsas de polietileno y estas en posición vertical en una cámara a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ sin luz. Durante 7 días que duró la prueba se verificó que no le faltara humedad.

Al final del ensayo se contó el número de plúmulas de las plántulas consideradas como normales (las plántulas anormales no se incluyen en el conteo) que estuvieran situadas en cada paralela, a cada una se le proporcionó un valor de 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 cm, siendo este el punto medio de cada paralela. El número de plúmulas que queda en cada paralela se multiplica por la distancia y se suma, dividiendo la longitud total entre el número de semillas sembradas (25) como sigue:

$$L = \frac{(nx1+nx3+nx5+\dots\dots\dots nx13)}{25}$$

Donde:

L= longitud media de plúmula.

n= número de plúmulas entre dos paralelas.

x= distancia del punto medio de paralelas a líneas central.

Tasa de crecimiento de plántulas (Peso seco de plántulas, PSP)

Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por línea; las semillas se colocaron en dos hojas de papel 35.5 x 63 cm, debidamente orientadas en dos hileras cubriendo en una toalla igualmente humedecida se colocaron los rollos o “tacos” de bolsas de polietileno de 35 x 60 cm colocando las bolsas en canastas de 18X28X31 cm aproximadamente, para el desarrollo de plántulas a 25 ± 1°C por 7 días.

Al finalizar este periodo, se evaluaron las plántulas, descartando las plántulas anormales y las semillas sin germinar o muertas; a las plántulas normales se les corto con una navaja las semillas y el mesocotilo, dejando la plúmula o vástago y la raíz para el peso seco estas se colocaron en bolsas de papel estraza, posteriormente se secaron en un horno por 24 horas a 65°C. Pasado el tiempo estas se sacaron, se enfriaron y se pesaron las bolsas con plántulas y la pura bolsa en una balanza analítica de 0.0001 de precisión.

Los resultados se obtuvieron en mg/plántulas, en donde, el peso seco total expresado en miligramos de las plántulas normales se dividió entre el número de las plántulas normales (AOSA, 1983).

Composición química de la semilla

Preparación de la semilla

Para la determinación de proteína se realizaron tres porciones de la semilla de trigo de cada genotipo: la semilla entera, el endospermo y embrión, utilizando para cada determinación dos semillas, previamente congeladas a 10°C bajo cero, para su mejor maceración.

Semilla entera

Se trituraron las semillas con la ayuda de un mortero de porcelana, y se macero la muestra hasta quedar en forma de harina y, se colocaron en un tubo de eppendorf de 1.5 ml con su identificación de cada genotipo en sus tres repeticiones.

Embrión y endospermo

En la separación de embrión del endospermo en la semilla, se cortó con mucho cuidado en forma longitudinal con el filo del bisturí, recolectando por un lado el endospermo y por otro el embrión, de igual manera se trituró con la ayuda del mortero de porcelana y se colocó cada muestra en un tubo eppendorf de 1.5 ml de capacidad.

Aislamiento o extracción de proteínas

Una vez obtenidas las porciones a evaluar se procedió a la extracción de proteínas, conforme a las reglas internacionales de ensayos de semillas (ISTA, 2004), recomendando dos soluciones diferentes para el aislamiento de dos proteínas importantes en semilla de trigo, (gliadina y glutelina) basado en el principio de solubilidad de estas.

Extracción de Gliadinas. Una vez colocada la muestra en un tubo eppendorf de 1.5 ml, se añadió 250 µl de solución A, la cual consistió en 25 ml de 2 cloroetanol, 50 mg de pironina Y/G, aforada a 100 ml con agua destilada.

Se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente y, posteriormente se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm, el sobrenadante se guardó en un tubo eppendorf, para su cuantificación en el espectrofotómetro.

Extracción de Glutelinas. Del residuo sólido anterior del tubo eppendorf, se añadieron 500 µl de solución B, esta consistió en 27.0 g de urea, 3.0 ml de mercaptoetanol y 10.0 g de SDS, llevados a un volumen de 100 ml con agua destilada.

Igualmente se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente y, posteriormente se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm, el sobrenadante se guardó en un tubo eppendorf limpio, para su cuantificación en el espectrofotómetro.

Cuantificación de proteínas

Cada una de las proteínas extraídas (glutelinas y gliadinas) de las tres repeticiones de cada porción y genotipos estudiados, se cuantificaron por el método de Lowry *et al.* (1951). Esta reacción es extremadamente dependiente del pH, la cual se debió mantenerse entre 10 -10.5 de pH; el reactivo de Bradford contiene azul de comassie, etanol y ácido ortofosforico, reaccionando con los residuos de aminoácidos básicos y aromáticos especialmente arginina de las proteínas extraídas.

Se realizó una curva estándar con una solución de seroalbumina a 1mg/ml, con la finalidad de tener un patrón de concentraciones leyendo en un espectrofotómetro de la Serie BioMate™3, Termo Electrón Corporation a 670 nm de absorbancia.

Preparación de la Curva Estándar y muestras

Se realizaron diluciones de 0.2 a 1.0 mg/ml de seroalbúmina (BSA) para la curva estándar. En seguida se tomaron 100 µl de cada dilución de BSA y se depositaron en tubos de ensaye previamente identificados con las concentraciones, utilizando un blanco con 100 µl de agua desionizada.

Se añadió 2.0 ml de reactivo de Folín- Ciocalteau, se agitó y se dejó reposar por 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se vació el contenido de cada tubo en las celdas de espectrofotómetro, y se tomó la lectura a 670 nm.

Para la muestras a evaluar tanto de gliadinas como de glutelinas, se prepararon de igual manera, con 100 µl de cada muestra, se colocaron en tubo de ensayo, agregando 2 ml de reactivo de Folín- Ciocalteau, se reposo y se procedió a tomar la lectura en el espectrofotómetro, la cual se reporto en mg/ml.

Diseño Experimental

El diseño experimental utilizado para las variables que se evaluaron en el laboratorio fue un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y para el porcentaje de proteína total en semilla entera, endospermo y embrión, se utilizaron tres repeticiones.

Análisis Estadístico

Todos los análisis de varianza se realizaron mediante el paquete estadístico SAS versión 6.0 (1989), con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = valor observado.

μ = Efecto de la media general.

S_i = Efecto del i ésimo genotipo.

ϵ_{ij} = Error experimental.

Se utilizó la prueba de rango múltiple de la diferencia mínima significativa (DMS), la cual según Steel y Torrie (1980), se calcula mediante:

$$DMS = (t_{\alpha/2, g.l.EE}) \sqrt{2CMEE/r}$$

Donde = CMEE Cuadrado medio del error.

r = Número de observaciones usadas para calcular un valor medio.

α = Nivel de significancia.

g.l.EE = Grados de libertad del error experimental.

t = Valor tabular que se usa en la prueba, con los grados de libertad del error y el nivel de significancia apropiado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad física

De acuerdo a los resultados obtenidos para el contenido de humedad (Figura 4.1) se observó que el genotipo G8 fue el que presentó mayor contenido de humedad de 7.78 % seguidos los genotipos G5 y G6 con 7.58 y 7.56% de humedad mientras que los genotipos G7 y G9 su contenido de humedad fue menor obteniendo valores bajos de 7.09 y 7.06 % de humedad. En la (Figura 4.2) se observan las diferencias de peso volumétrico, mostrando mayor PV el genotipo G10 con 77.88 Kg/HL estando entre estos los G3 y G9 con 75.32 y 75.58 Kg/HL por lo contrario los genotipos G2, G5 y G8 fueron los que obtuvieron menor PV con 71.95, 71.20 71.13 Kg/HL respectivamente. Lo relacionado con el peso de las semillas PMS el genotipo G8 fue el que presento mayor peso con 68.68g. Por otro lado los genotipos restantes obtuvieron pesos mayores de 21.82 g y menores de 32.62 g (Figura 4.3).

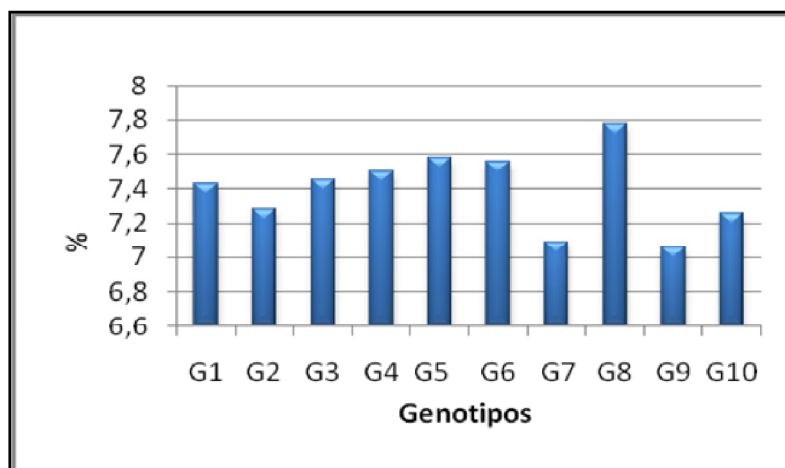


Figura 4.1. Comportamiento de 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (*Triticumaestivum L*) en el Contenido de Humedad

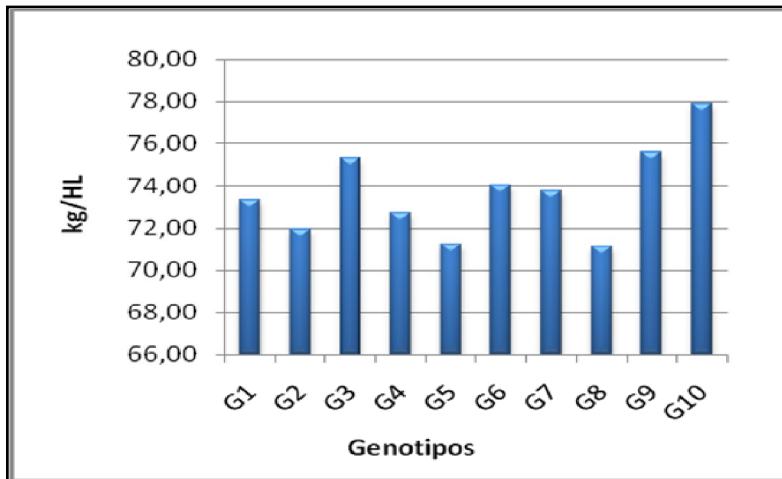


Figura 4.2. Comportamiento de 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L) en relación al Peso Volumétrico.

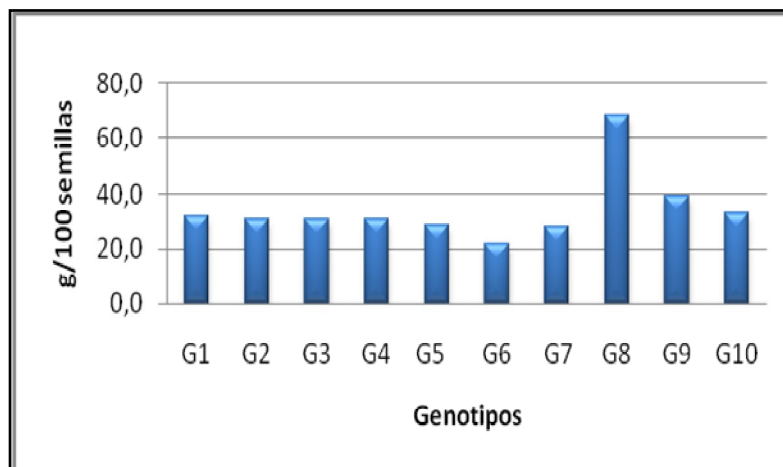


Figura 4.3. Comportamiento de 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L) en el peso de Mil Semillas.

Calidad fisiológica

Capacidad de germinación

En el análisis de varianza para esta variable se encontró diferencias altamente significativas entre los genotipos evaluados en plántulas normales y semillas sin germinar (Cuadro 4.1); mostrando un coeficiente de variación (CV) de 4.84% y 41.97% respectivamente.

En la comparación de medias, los genotipos G2, G3 y G7, resultaron estar en el primer grupo con los mayores valores de germinación, donde numéricamente G7 presentó el más alto valor con 100% de germinación; mientras que los genotipos G9 y G10 fueron el último grupo con los valores más bajos de 84 y 80% respectivamente.

Lo anterior muestra, que dentro de los materiales evaluados existe una diferencia marcada de calidad fisiológica, como se muestra en la Figura 4.4, por lo que estos dos últimos genotipos, no estarían dentro de los parámetros estándar de calidad para su registro y ni en la comercialización de semillas certificadas el porcentaje mínimo requerido para la venta es de 85% (SNICS, 2007) y con ello pudiera afectar las demás variables evaluadas.

Cuadro 4.1. Cuadrados medios y significancia para cada una de las variables en la Calidad fisiológica y resultados de la comparación de medias (DMS) en 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L).

G.L		PC	PN	PA	SSG	LMP	PS
Genotipos		(%)	(%)	(%)	(%)	(cm)	mg/pl
	9	242.1 ^{NS}	159.51 ^{**}	1.666 [*]	5.085 ^{**}	4.361 ^{**}	9.676 ^{**}
Error	30	116.1	19.866	0.591	0.740	1.036	2.081
CV	39	48.76%	4.84%	53.29%	41.97%	10.25%	11.48%
Comparación de media	G1	17.0	93.0 BC	4.0 AB	3.0 DC	11.19 A	14.50 A
	G2	18.0	98.0 AB	2.0ABC	0.0 D	11.04 A	14.31 AB
	G3	40.0	98.0 AB	1.0 C	1.0D	10.32 AB	11.88ABCD
	G4	29.0	91.0 C	0.0 C	8.0 BC	10.44 AB	13.58 ABC
	G5	28.0	90.0 CD	2.0ABC	8.0 BC	8.98 ABC	11.55 BCD
	G6	17.0	95.0ABC	0.0 C	5.0 DC	9.55 ABC	12.71 ABC
	G7	20.0	100.0 A	0.0 C	0.0 D	10.82 A	11.38 CD
	G8	18.0	92.0BC	6.0 A	2.0 D	8.50 BC	9.85 D
	G9	17.0	84.0 DE	4.0 AB	12.0 AB	9.54 ABC	14.23 AB
	G10	18.0	80.0E	5.0 AB	15.0 A	8.08C	11.61 BCD
Valor DMS		6.43	1.11	1.24	1.97	2.80	

** =Nivel de significancia (0.01 %), * =Nivel de significancia (0.05 %), NS =No significativo. PC=primer conteo, PN=plantas normales, PA=plantas anormales, SSG=semilla sin germinar, LMP=longitud media de plúmula, PS=peso seco. Medias con la misma literal son estadísticamente iguales.

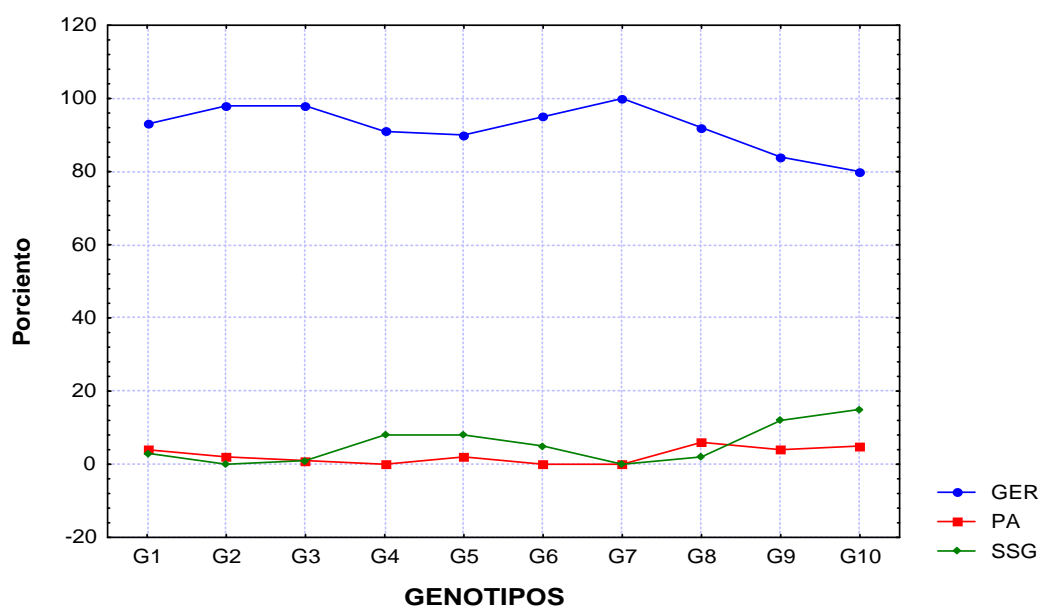


Figura 4.4. Comportamiento para las variables germinación (PN), plantas anormales (PA) y semilla sin germinar (SSG) en 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L.)

En las plántulas anormales, resultó una diferencia significativa entre los genotipos, con un CV de 53.29% mostrado en el mismo Cuadro 4.1; donde G8, G9 y G10 se encontraron en el mismo grupo con el mayor porcentaje de plántulas anormales en la comparación de medias, lo cual indicó, que la semilla empezaba a tener algún grado de deterioro, como mencionan algunos autores (Roberts, 1986; Spears, 1995), que la baja germinación, el aumento de plántulas anormales y otras características van dando los índices de deterioro de la semilla hasta llegar a la muerte de la misma; tomando en consideración lo anterior, se dedujo que estos genotipos tuvieran algo similar, ya que los resultados arrojados fueron de 6.0, 4.0 y 5.0% respectivamente, así como de porcentajes bajos en la germinación (antes mencionados); mientras que G4, G7 y G6 no presentaron anomalías, por lo que estos genotipos no mostraron deterioro en la semilla al momento de evaluarla.

En el caso de semillas sin germinar, se obtuvo un CV de 41.97%; encontrando diferencias altamente significativas, confirmando lo descrito respecto a G9 y G10 son materiales que se encontraban deteriorados, ya que sus porcentajes obtenidos en esta variable fue de 12.0 y 15.0 % de muerte, confirmando lo descrito por Powell et al., (1988), donde mencionaron que las semillas muertas y plántulas anormales demuestran el deterioro de la semilla, así mismo se confirmó su baja capacidad de germinación, descrito por Alizaga *et al.*,(1994), quienes mencionaron que la reducción del poder germinativo es una consecuencia avanzada del proceso de deterioro. Por lo tanto, no se aprobarían en una certificación por la baja calidad que presentaron y como consecuencia no se podrían registrar.

VIGOR

Primer Conteo

En el caso de esta variable, no se detectó diferencia entre los genotipos, lo que indica que estadísticamente fueron iguales, sin embargo en el Figura 4.5 se observó que el G3 fue el que mayor porcentaje de plántulas normales en esta variable obtuvo con 40%, seguidos los G4 y G5 (29% y 28%); y los genotipos G6, G8

y G9 los más bajos porcentaje con 17 % cada uno, como se muestra en la figura antes mencionada.

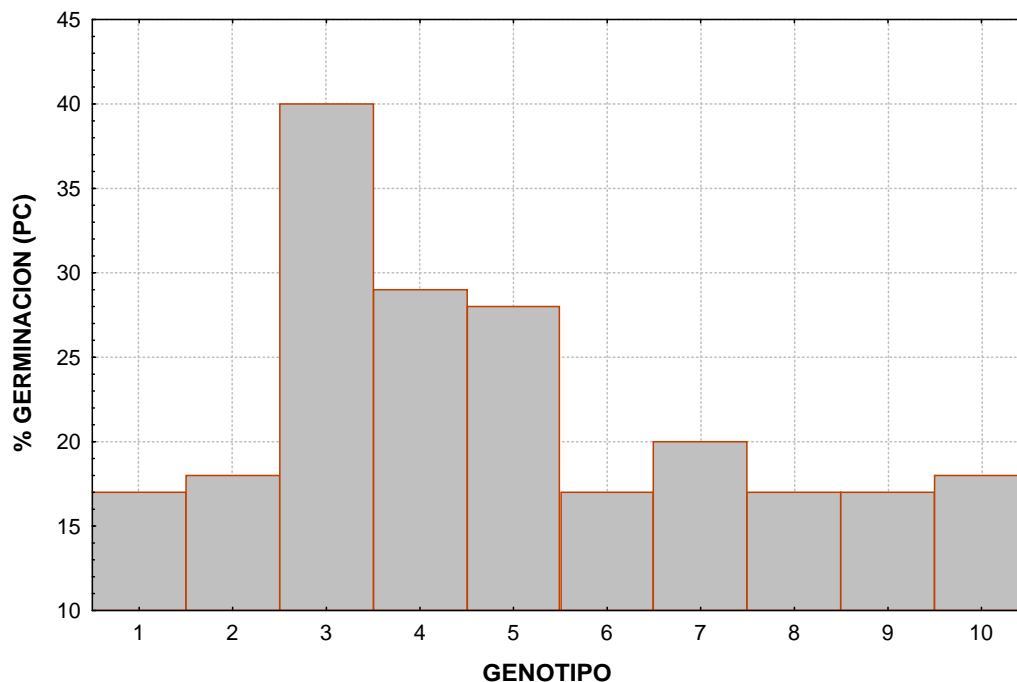


Figura 4.5. Respuesta del porcentaje de germinación o plántulas normales a un primer conteo a 4 días en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L), producido en UAAAN, 2006-2007.

Longitud media de plúmula

En el análisis de varianza se encontró una diferencia altamente significativa entre los genotipos para esta variable, con un CV de 10.25%. En el (Cuadro 4.1) se muestra la comparación de medias obtenida; según Perry (1987), determinó que el valor máximo de esta variable debe ser por arriba de 13 para considerarse la semilla de alto vigor; por lo cual se puede considerar que, los genotipos G1, G2 y G7 que obtuvieron los valores más altos de longitud con 11.19, 11.04 y 10.82 cm respectivamente, fueron los de más alto vigor dentro de los parámetros de calidad fisiológica; sin embargo G9, G8 y G10, se clasificaron de poco vigor, por obtener baja longitud de plúmula con 9.54, 8.50, 8.08 cm respectivamente

Tasa de crecimiento de plántula (Peso seco)

En esta variable existió una diferencia altamente significativa, de manera que entre los genotipos obtuvieron diferentes respuestas, como se muestra en el (Cuadro 4.1) dando un CV de 11.48%.

En este mismo cuadro, se observa que G1, G2 y G9 obtuvieron valores de 14.50, 14.31 y 14.23 mg/plántula cada uno, resultando ser el primer grupo estadísticamente más alto, sin embargo G1 fue el de mayor peso entre los genotipos siendo el de mayor vigor, seguido por los G2, G9 y G4 quienes también obtuvieron valores altos, de manera que se clasificaron también de alto vigor, mientras que G7 y G8 (11.38 a 9.85 mg/plántula) fueron los de menor peso por lo tanto de bajo vigor.

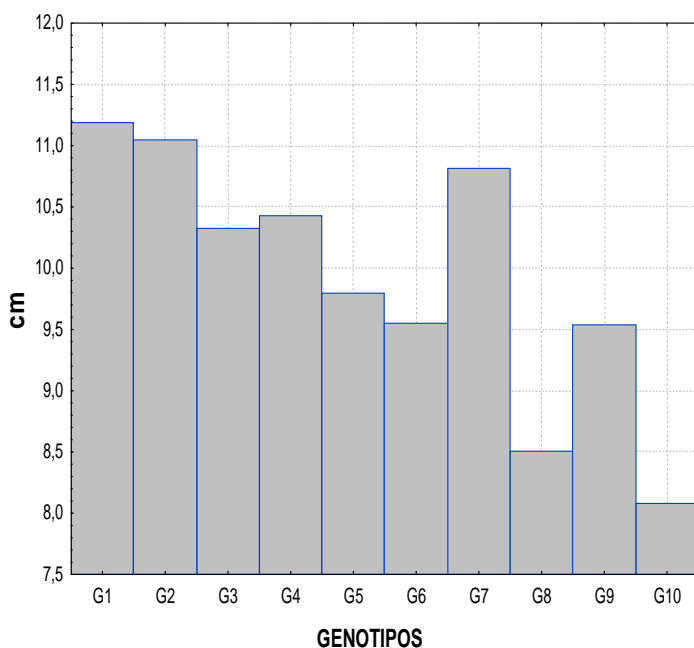


Figura 4.6. Comportamiento para la variable longitud media de plúmula (LMP) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L).

Considerando las dos variables de vigor antes descritas, se observó que G1 aún a pesar de que no obtuvo el valor más alto de germinación, resultó ser el más vigoroso en la longitud de plúmula y peso seco, Figura 4.6 y 4.7, Pero hubo bajo porcentaje en plántulas normales, lo cual mostraría una baja emergencia en campo.

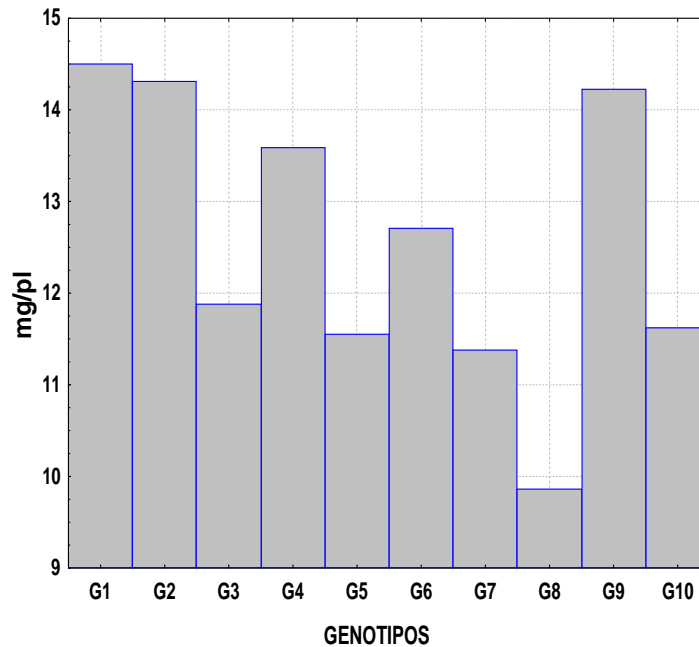


Figura 4.7. Respuesta del Comportamiento para la variable peso seco (PS) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L).

Envejecimiento Acelerado

El ANVA para el porcentaje de germinación (PN) después del envejecimiento acelerado, mostró una diferencia significativa entre los genotipos, con un CV de 30.13% (Cuadro 4.2); resultando que los genotipos G10, G7 y G8 obtuvieron los mayores porcentajes de germinación con 79.0% a 64.0%, estos valores marcaron que el vigor de la semilla ante este estrés de alta temperatura y humedad relativa fue bajo, sin embargo, entre los materiales estudiados fueron los mejores, por lo que pueden considerarse genotipos de buen vigor, capaces de someterse a estrés energético y poder dar buena respuesta de germinación, así como tener una buena emergencia en campo en condiciones climáticas de temperaturas y humedades relativas altas, tomando la descripción de vigor que menciona la ISTA (1996).

En cambio, el comportamiento que obtuvieron en los genotipos G1, G2, G3, G4 y G5 mostraron germinaciones de 55.0% a 37.0%, (Figura 4.8), considerando la

descripción anterior, este grupo fue de bajo vigor, lo cual no soporto temperaturas y humedades relativas extremas; los genotipos antes mencionados al ser llevados a campo no tendrían buena respuesta en emergencia, pero las que logren emerger tendrán buena longitud y materia seca, ya que fueron los genotipos que resultaron tener mayor valor en estas variables.

En lo referente plántulas a anormales (PA) resultantes después del envejecimiento, no hubo diferencia significativa entre los genotipos, sin embargo numéricamente, G7 y G10 con porcentajes de 5.0% y 1.0% fueron los que presentaron menor número de plantas anormales y, G3 y G1 con valores de 46.0 % y 30 % fueron los de mayor número (Figura 4.8), reafirmando nuevamente que estos genotipos fueron afectados severamente por las condiciones de la prueba a la que fueron sometidos, pues tuvieron un grado de deterioro alto, reflejado en el número de plántulas anormales (Roberts, 1986 y Spears,1995), así como por lo descrito por Besnier (1989) quien mencionó que el envejecimiento puede producir daño en la cromatina, lo que se traduce en un aumento en la aparición de malformaciones en las plántulas.

El ANVA para las semillas sin germinar no se encontró diferencia entre los genotipos, con un CV de 25.11%, mostrado en el (Cuadro 4.2). dando porcentajes por arriba de 20% en todos los genotipos lo cual indica que fueron afectados drásticamente, sin embargo G8 y G10 con 20.0 y 25% fueron menos afectados, y como era de esperarse G1 G2 G3, y G4 con valores 33.0, 39.0, 51.0 y 48.0% los más afectados.

Longitud media de plúmula después del envejecimiento acelerado

En esta variable se encontró en el ANVA una diferencia significativa (Cuadro 4.2) con un CV de 36.90% por lo que se muestra en la comparación de medias, que G10 y G7 obtuvieron los más altos valores de longitud entre los genotipos estudiados; pero era de esperarse que se obtuvieran valores más bajos por las condiciones de la prueba, sin embargo fue mayor la longitud en el caso de G10 (LMP 8.08 cm y LMP después del EA 9.03% cm), mostrando que este genotipo tiene alguna resistencia a estas condiciones de temperatura y humedad relativa altas.

Por otro lado, los genotipos G4 y G1 presentaron los valores bajos de longitud, confirmando que son afectados en estas condiciones.

Peso seco de plántula

En el ANVA para esta variable después del EA (que induce un aumento en el ritmo del deterioro fisiológico), detecto una diferencia altamente significativa, con un CV 19.91% mostrado en el (Cuadro 4.2)., donde también se reportó que los genotipos G2, G9 y G10 obtuvieron valores más altos de peso seco 13.20, 14.14 y 14.31mg/plántula, confirmando nuevamente que G10 a pesar de que se sometió a un estrés, obtuvo mayor desarrollo en longitud de plúmula y materia seca, lo cual muestra que este genotipo tuvo la capacidad de ser tolerante a temperaturas extremas.

Por otro lado; los genotipos G1, G4, y G5 (7.11, 8.51 y 8.86 mg/plántula respectivamente) resultaron ser los de bajo vigor, por presentar estos valores.

Cabe mencionar que en todas las variables de vigor y, aún las que se evaluaron después del envejecimiento acelerado para el genotipo G7, (Figura 4.9) que era un genotipo con un porcentaje de germinación muy alto (100%) y que estaba clasificado como el mejor genotipo por su respuesta fisiológica, resultó ser unos de los que presentaron valores bajos en el vigor; por lo que se puede mencionar que

este genotipo no es tolerante a condiciones de temperatura y humedad relativa altas, pero tampoco tiene una buena predicción en su desarrollo de emergencia y establecimiento; en cambio genotipos que mostraron valores de germinación bajos, considerándolos fuera del parámetro de calidad marcado para una certificación, resultó ser tolerante aún con bajos porcentajes pero con alto desarrollo de la plúmula y peso seco de la plántula.

Cuadro 4.2. Cuadrados medios y significancia para cada una de las variables en vigor (Envejecimiento acelerado), y resultados de la comparación de media (DMS). En 10 Genotipo de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L.)

	G.L	PN	PA	SSG	LMPEA	PSEA
		(%)	(%)	(%)	(cm)	mg/pl
Genotipos	9	609.28*	5.815 ^{NS}	2.613 ^{NS}	10.52*	25.30**
	30	273.73	4.284	2.030	4.404	4.734
	39	30.13%	61.63%	25.11%	36.90%	19.91%
Comparación de media	G1	37.0 C	30.0 AB	33.0 ABC	3.05 C	7.11 D
	G2	51.0 BC	10.0 AB	39.0 ABC	5.69 BC	13.2 AB
	G3	43.0 BC	46.0 A	51.0 A	5.17 BC	10.3ABCD
	G4	43.0 BC	9.0 AB	48.0 AB	4.15 C	8.51CD
	G5	55.0 BC	13.0 AB	32.0 ABC	5.41 BC	8.86 CD
	G6	57.0 ABC	14.0 AB	29.0 ABC	5.17 BC	9.44 BCD
	G7	64.0 AB	5.0 B	31.0 ABC	7.24 AB	12.55ABC
	G8	64.0 AB	11.0 AB	25.0 BC	6.04 ABC	10.8ABCD
	G9	56.0 ABC	14.0 AB	30.0 ABC	5.92 BC	14.14 A
	G10	79.0 A	1.0 B	20.0 C	9.03 A	14.31 A
Valor DMS		23.89	2.98	2.05	0.03	2.23

** = Nivel de significancia (0.01 %), * = Nivel de significancia (0.05 %), NS = No significativo. PN=plantas normales, PA=plantas anormales, SSG=semilla sin germinar LMPEA=longitud media de plúmula, PSEA=peso seco. Medias con la, misma literal son estadísticamente iguales.

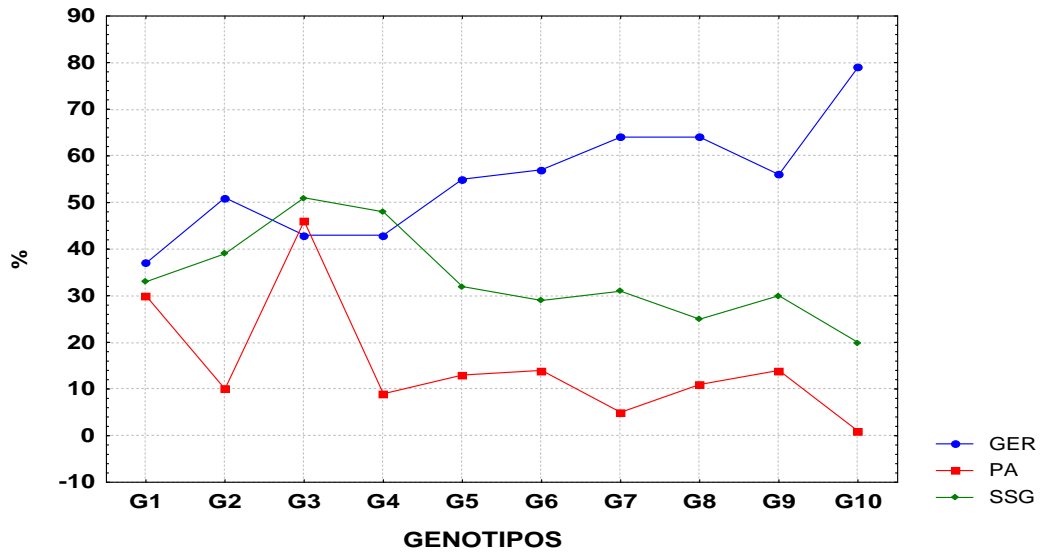


Figura 4.8. Comportamiento para las variables germinación (PN), plantas anormales (PA) y semilla sin germinar (SSG) evaluando vigor mediante Envejecimiento Acelerado (E A). en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L).

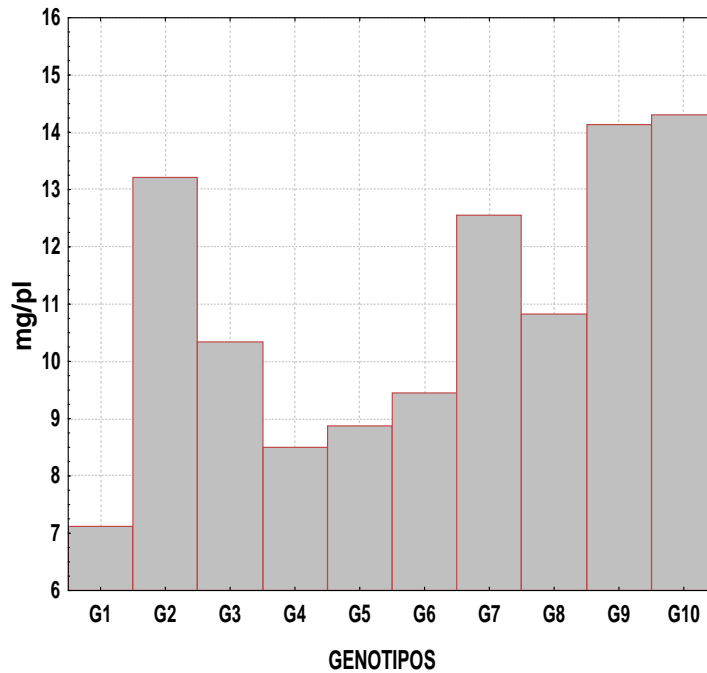


Figura 4.9. Comportamiento para peso seco evaluando vigor mediante Envejecimiento acelerado (EA) en 10 líneas elite de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum* L).

CUANTIFICACIÓN DE PROTEINAS

Gliadinas

Dentro de la cuantificación de gliadinas como término bioquímico de la semilla, resultó no tener diferencias entre los genotipos estudiados tanto en embrión, endospermo y semilla completa (Apéndice cuadro A1), por lo que los materiales se clasificaron como iguales en su descripción en la cuantificación de gliadinas, pero cabe mencionar que esta proteína es utilizada para verificar, identificar o caracterizar materiales (ISTA, 2004), cuando se fracciona en polipéptidos de diferentes peso moleculares, expresadas en bandas, todo ello dado por métodos electroforéticos con poliacrilamida y sulfato dodecil conocido como PAGE-SDS (Wrigley y colaboradores, 1982; Konarev y colaboradores, 1979; Shewry, 1979), sin embargo su concentración o grado de presencia de esta proteína en la semilla no ayuda a describir genéticamente materiales, ya que más bien tiene un desempeño funcional dentro de la semilla (Valdez, 2002).

Ahora bien, numéricamente los materiales si presentaron diferentes concentraciones de gliadina, como se muestra en la Figura A.1, en el caso de embrión por ejemplo G3, G8 y G10 fueron los que presentaron mayor concentración con 0.25, 0.24 y 0.24 $\mu\text{g/ml}$ cada uno, y por consecuencia en semilla entera, con excepción de G3 que resulto con 0.17 $\mu\text{g/ml}$; mientras que en endospermo, los genotipos que presentaron concentraciones más altas fueron G6, G7 y G9 con 0.76, 0.81 y 0.74 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

Glutelina

En cuanto a esta variable, el ANVA mostró que no hubo diferencias entre los genotipos en embrión y semilla completa, mientras que en endospermo resultó altamente significativo como se muestra en el (Cuadro 4.3). En la comparación de medias para la fracción del endospermo, G9 presentó la mayor concentración con

1.76 µg/ml, seguidos de G7 y G8 con 1.57 y 1.14 µg/ml; mientras que G5 fue el de menor concentración con 0.29%. En forma general en los materiales estudiados, la concentración de glutelinas fue menor en el embrión y mayor en el endospermo Figura 4.10, con este ultimo, posiblemente se pueda utilizar para describir materiales, pero no sería muy confiable por ser un parámetro que depende o es influenciado por factores externos a la semilla (medio ambiente, riego, fertilización, nutrientes, fotoperíodo) ya que la calidad o tipo de proteína de trigo depende de aspectos genéticos mientras que la cantidad esta mas influenciada por el ambiente (Peltone y Virtanen,1994., Jia et al.,1996) aunque cabe la posibilidad de que por ser una proteína estructural puede ser considerada como un descriptor genético como lo mencionan (Cornell y Hovelling, 1998). En el endospermo se concentra la mayor cantidad de proteína (80% aproximadamente), de la cual alrededor del 85% corresponde a las prolaminas (gliadinas y glutelinas), llamadas también proteínas de almacenamiento de tal forma son utilizadas en la actualidad para caracterizar, identificar o verificar materiales de semilla como la gliadina por patrones electroforéticos (ISTA, 2004).

Cuadro 4.3 Cuadrados medios y significancia para proteína (glutelina) en 10 Genotipos de trigo forrajero imberbe (*Triticum aestivum L.*).

FV	G.L	EMBRION	ENDOSPERMO	S.COMPLETA
Genotipos	9	0.083 ^{NS}	0.576 ^{**}	0.133 ^{NS}
Error	30	0.172	0.143	0.080
CV	39	44.18%	39.27%	34.26%
Comparación de media	G1	0.93 A	0.86 CD	1.76 A
	G2	1.16 A	1.00 BC	0.86 AB
	G3	0.93 A	0.84 CD	0.65 B
	G4	0.76 A	0.73 CD	0.79 B
	G5	0.75 A	0.29 D	0.74 B
	G6	0.72 A	0.57 CD	0.59 B
	G7	0.80 A	1.57 AB	0.63 B
	G8	1.02 A	1.14 ABC	1.00 AB
	G9	1.14 A	1.76 A	0.73 B
	G10	1.08A	0.82 CD	0.97 A
Valor DMS		0.70	0.72	0.48

Valor ** = Nivel de significancia (0.01 %), * = Nivel de significancia (0.05 %) NS = No Significativo.

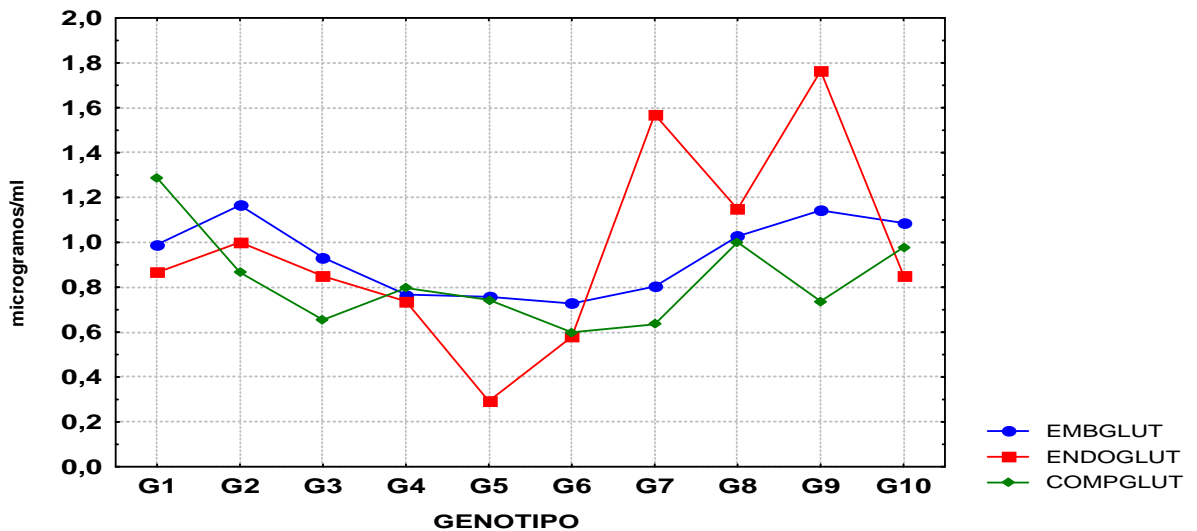


Figura 4.10. Comportamiento del contenido de proteína Glutelina en trigo forrajero utilizado en EMBGLU embrión ENDOGLU=endospermo- COMGLU =semilla completa.

CORRELACIONES ENTRE LAS VARIABLES fisiológicas y bioquímicas

El análisis de correlaciones mostró que el contenido de gliadinas en grano completo hay una relación negativa en la germinación, mientras que en plántulas anormales y semillas sin germinar hubo una mayor incidencia, aunque en G7 se observó que numéricamente obtuvo mayor contenido de gliadinas en el endospermo (0.81 mg/mL) y una germinación de 95%, lo cual se pensaría que para obtener una alta germinación debe existir mayor concentración de gliadinas en el endospermo, pero en forma general no se presentó este comportamiento. Sin embargo en la semilla completa, el G7 no tuvo este comportamiento, ya que fue uno de los genotipos que obtuvo menor concentración de gliadinas.

Por otro lado, G9 y G10 obtuvieron los valores más bajos en germinación y los más altos de contenido de gliadinas sobre todo en endospermo, así mismo se obtuvieron los mayores valores de gliadinas en semilla completa a diferencia de G7; por lo tanto se puede deducir que esta proteína tiene la función de ayudar en la germinación, pero ésta va a depender del grado de deterioro de la semilla para poder

activarse, comprobando lo anterior, por la relación que tiene el vigor (EA) con la concentración de gliadinas (Cuadro A.2).

Por otro lado el análisis de correlaciones mostró, que existe una relación positiva en el contenido de glutelina en embrión y semilla completa con las plántulas anormales, lo cual nos dice que a mayor cantidad de glutelinas presentes en el embrión y en semilla completa habrá mayor cantidad de plántulas anormales.

Por lo tanto se puede mencionar que las glutelinas por ser consideradas proteínas de reserva, su localización debe ser en el endospermo., que en este trabajo se encontró mayor contenido en el embrión, lo cual se confirma nuevamente que la semilla utilizada en los genotipos se encontraba en un grado de deterioro, por lo que existía un desequilibrio proteico en la misma; sin embargo no se dieron anomalías aun, al ser sometido a condiciones de envejecimiento acelerado, por consiguiente se deduce que las concentraciones altas de glutelina en el endospermo evita que formen plantas anormales., de la misma manera crean resistencia al ser sometidas a pruebas de vigor como envejecimiento o al ser llevadas a campo a condiciones altas de temperatura.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- Todos los genotipos con excepción de G10 mostraron una alta capacidad de germinación, pero al ser evaluados en pruebas de vigor los mejores resultaron G7, G8 y G10, por lo tanto se sugiere que estos últimos sean los recomendados para una posible comercialización.
- La mayor concentración de gliadinas en endospermo como en los genotipos G8 y G10 están positivamente relacionadas con el vigor, aún después de haber sido sometidos a un estrés, como lo fue la prueba de envejecimiento acelerado.
- Al parecer, debido a la mayor concentración de gliadinas en endospermo, se encontró una relación negativa con la germinación, ya que se esperaba mayor concentración de éste en el embrión, por ser una proteína funcional o de actividad germinativa
- La presencia de plántulas anormales en los genotipos estudiados se dio en función a la cantidad de glutelina presente en el embrión, marcando un desequilibrio en la localización de esta proteína ya que debe encontrarse en mayor concentración en el endospermo por ser considerada una proteína de reserva.
- En forma general, el equilibrio del contenido de proteínas (gliadinas y glutelinas) en la semilla completa o en su localización ya sea en el embrión o en el endospermo, están relacionados en la calidad fisiológica tanto en

- germinación como vigor, así como en su resistencia a las condiciones externas o estrés de la semilla.

LITERATURA CITADA

- Anderson J; D. and Baker J; E. 1982. Deterioration of seed during aging. *Plant physiol.* 73:321-325. USA.
- Andrews, T, S; C. E. Jones and R.D Whalley 1997. Factors affecting the germination of gian parrametta grass. *Australian J. of Experimental Agriculture.*37:4,439-446. Australia.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA) 1992. Seedling evaluation handbook. Contribution No. 35. *The Handbook of official Seed.* United States of America. 76-80 p.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA) 1993. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 35 *The Handbook of official Seed.* United Status of America. 88 p.
- Besnier, F. 1989. *Semillas: Biología y Tecnología.* Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Esapaña.
- Bewley, J.D. and Black M.1986. *Seed Physiology of development and germination.* Plenum press. New York and Lodon. p.1, 3-5.
- Bidwel, R.G.S. 2002. *Fisiología vegetal.* Primera edición en español. Editor A.G.T. Mexico. D.F. pp. 600- 6001, 6008- 6010, 612- 613.
- Bradbeer, J.W 1988. *Seed, Dormancy and germination.* Blackie Glasgow and London. First published.220p.
- Bradbeer, T 1988. Protein synthesis in triticale and its durum wheat and rye parents. *Cereal Chem.* 52: 277-282.
- Bustamante G., L.A. 1995. Pruebas de vigor en semillas y sus aplicaciones. VII curso de actualización en tecnología de semillas, Memorias. Buenavista Saltillo, Coahuila. México.p.10-20.
- Camacho, M.F.1994. Dormición de semillas. Ed. Trillas. México. P.9, 13.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1991. Elementos esenciales para el éxito de un programa de semillas. Guía de estudio para ser usada

como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Cali, Colombia. 7- 9.

Copeland, L. O. 1976. Principles of seed science and technology.FST. Ed Burges. Mineapolis, Minnesota.

Copeland, L.O. and M.B. McDonald, 1985. Principles of seed science and Technology. Bed Burges Publishing Company. Mineapolis, Minnesota. U.S.A. p.122, 146, 157,169.

Copeland, L.O., and M. B. McDonlad. 2001. Principles of seed science and technology. (4th ed.). Kluwer Academic Publishers. United Stated of America

Cornell JH, and Hovelling AW 1998. Wheat chemistry and utilization. Technomic Publishing, Melbourne, Australia. 426 pp.

De la Torre, V. J. D. 1992. Descripción y mantenimiento varietal en variedades de frijol. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. Chapingo, México.

Flores H; A. 2004. Introducción a la tecnología de las semillas.1^a Edición. Departamento de publicaciones de la Dirección General de Difusión-Cultural y Servicio de la UACH. UACH. México. p 61-78.

Garay, A. E, S, P. R. Preton y J. L. Rosales. 1992. Desarrollo de sistema de semilla, el novedoso enfoque en Bolivia. Edit. Centro internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Bolivia. p. 5-10.

Garay, A. E. 1982. Desarrollo de sistema de semilla, el novedoso enfoque en Bolivia. Edit. Centro internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Bolivia. p. 7-10.

Gupta RB, Batey IL, MacRitchie F 1992 Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chem.* 69: 125-131.

Hafferkamp M; E; SmithH and R.A. Nilan. 1953. Studies on aged seeds L. Relation of age of seed to germination and longevity. *Agron.J.*45:434-437. USA

Hampton J. G. 2001 New Zealand Seed Technology Institute. Lincoln University Canterbury-New Zealand-. Verificado el 20 de enero del 2006.

Harmann, H y D.E Kester. 1995. Propagación de plantas. Ed. Continental. México. Pp.130-165.

Internacional Seed Testing Association. (ISTA) 1997. Internacional Rules for Seed Testing. Rules 1996. *Seed Sci. Technol.* 13(2): 299-355.

- International Seed Testing Association (ISTA) 2004. International Rules for Seed Testing. P.O. BOX 308, 8303 Basserdorf, CH-Switzerland. Chapter 8.
- International Seed Testing Association. (ISTA) 1996. Internaticional Rules for Seed Testing. Rules 1996. Seed Sci. Technol.13 (2):299-232.
- International Seed Testing Association. (ISTA) 2002. Internaticional Rules for Seed Testing. Rules 1996. Seed Sci. Technol.13 (2):299-232. Chapter 8.1
- Jia Y, Masbou V, Aussenac T, Fabre J, and Debaeke P. 1996 Effects of nitrogen fertilization and maturation conditions on protein aggregates and on the breadmaking quality of Soissons, a common wheat cultivar. *Cereal Chem.* 73: 123-130.
- Lowry, O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.*;193: 265-275.
- Manly, B.F.J 1986 Multivariate statistical methods: A primer. Ed. Chapman and Hall. London. 160p.
- Moreno. M. E. 1996 Análisis físico y biológico de semillas. Tercera edición. UNAM. México. D.F .pp.112-113, 119, 122, 237.
- Peltonen J, and Virtanen A 1994 Effect of nitrogen fertilizers differing in release characteristics on the quantity of storage proteins in wheat. *Cereal Chem.* 71: 1-5.
- Perretti A. 1994. Manual para análisis de semillas. Primera edición. Edit. Hemisferio sur. Buenos aires, Argentina. p.281.
- perry, d. a. 1987. introduction: methodology and application of vigour tests: growth and evaluation tests: topographical tetrazolium test. ista. handbook of vigour tests methods. 2a. edición. zurcí, switzerland. p.72
- Perry, A. D. 1988. El concepto de vigor de semilla y su relación con respecto a las técnicas de producción de semillas. Producción moderna de semillas. Editorial hemisferio sur.Tomo II. Escuela de agricultura, Universidad de Nottingham. pp. 693-716.
- Perry, D. A. 1977. A vigor test for seeds of barley (*Hordeum vulgare*) based on measurement of plumule growth. *Seed Science and Technology.* p.709-719.
- Potes, H. E.1977. Semillas, desarrollo, estructura y función. Curso sobre producción de semillas. Centro Internacional de Agricultura tropical. Cali, Colombia.
- Powell, A. A. 1995. The controlled deterioration test. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 24.,1995,

- Copenhagen. Seed vigor testing: contributions to a seminar. Zurich: International Seed Testing Association, p. 73-87.
- Powell, A.A. 1988. Seed vigor and field establishment. *Advances in Research and Technology seeds*, Wageningen. 11(1):29-21.
- Roberts, E.H. 1986. Quantifying seed deterioration. In: M.B. McDonald and C.J. Nelson, eds. *Physiology of Seed Deterioration*. Crop Science Society of America, Inc, Madison, p. 101-123.
- Rojas G. M. 1959. *Principios de la fisiología*. UNAM. México. pp. 103_ 171.
- Salisbury, F. B., y C. W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. (4th ed.). Wadsworth Publishing Company. California. Estados Unidos de América.
- SAS Institute Inc. 1989. *SAS/STAT User' s Guide*. Version 6, fourth Edition. SAS Institute Inc., Cary, N. C.
- Slafer GA, and Satorro EH. 1999. An introduction to the physiological-ecological analysis of wheat yield. En Satorro EH, Slafer GA (Eds.) *Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination*. Food Products Press. Binghampton, NY. pp. 3-12.
- Spears, J.F. 1995. An introduction to seed vigor testing. In: VAN DER VENTER, H.A., ed. *Seed vigor testing seminar*. International Seed Testing Association, Zürich, p.1-9.
- Steel, G.D. and J.H. Torrie. 1980. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill, New York. USA.
- Taiz, L., y E. Zeiger. 2002. *Plant physiology*. (3th ed.). Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland. Estados Unidos de América.
- Tesar, M. B. 1988. *Physiological basis of crop growth and development*. American Society of América. Madison Wisconsin. U. S. A. P70-75.
- Thomson, J.R 1979 *An introduction to seed technology*. Thomson Litho Ltd. Great Britain. P. 1-15.
- Torres, T. M.A. 2004, *Identificación y cuantificación de proteína en semillas de maíz relacionadas con germinación y vigor*, Tesis de Maestría .UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Villareal, Q. J. A. 1993. Introducción a la botánica forestal. Segunda Edición. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. p 48-49.

Citas de Internet

Valdez R. 2002. <http://usuarios.amet.com.ar/ricardovald/gliadins.htm>

<http://www.monografias.com/trabajos6/trigo/trigo.shtml>.

<http://ccex.e-camara.net/mnt/descargas/GTBTNNIC20.doc>

<http://www.lamolina.edu.pe/FACULTAD/Agronomia/horticultura/propagacion/reprods>

APÉNDICE

Cuadro A.1 Cuadrados medios y significancia para proteína (**Gliadina**) en trigo Forrajero, y resultado de la comparación de medias (DMS).

FV	G.L	EMBRION	ENDOSPERMO	S.COMPLETA
Genotipos Error	9	90.013 ^{NS}	0.103 ^{NS}	0.037 ^{NS}
	30	0.006	0.058	0.026
CV	39	45.11%	44.22%	71.27%
Comparación de media	G1	0.20 AB	0.30 B	0.11 B
	G2	0.16 AB	0.40 A	0.18 B
	G3	0.25 A	0.42 AB	0.17 B
	G4	0.09 B	0.31 B	0.20 AB
	G5	0.08 B	0.49 AB	0.17 B
	G6	0.14 AB	0.76 A	0.16 B
	G7	0.11 B	0.81 A	0.14 B
	G8	0.24 A	0.54 AB	0.29 AB
	G9	0.11 B	0.74 A	0.34 AB
	G10	0.24 A	0.61 AB	0.47 A
Valor DMS		0.12	0.041	0.27

Valor ** = Nivel de significancia (0.01 %), * = Nivel de significancia (0.05 %) NS = No significativo. Medias con la misma literal son estadísticamente iguales.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.